

生物リズムの中核：視交叉上核

井上 慎 一¹⁾

1) 山口大学理学部自然情報科学科

I. 生物リズムとは何か

地球上の生物は例外なく、一日周期の地球の自転に曝されて代を重ね、その結果、現在生きている。温度や光などの生物を取り巻く物理的環境がそのため、昼と夜とで大きく規則的に変化している中で進化してきた。これに対処するために生物は進化の早い段階から一日の時刻を知るための仕掛けを体内に持つようになったらしい。これが生物時計と普通言われるものである。生物時計は真核生物であればどんな生物でも持っている仕組みであり、おそらくは共通のメカニズムによっていると想像されているが、その見かけの仕組みによってずいぶん違っている。単細胞生物や植物の生物時計が動物と違っているのは判るとしても、人間と鳥や虫類でもずいぶん違う。これは生物時計としての性質が動物でも植物でも単細胞生物でもきわめてよく似ていることから予期できないことであった。例えば外界の一日周期と同調するメカニズムが一日の限られた位相でしか実現できないようにして、同調する位相をコントロールしていたり、温度補償性が働いていたり、水分子を重水に変えると周期が長くなるなどは共通にみられる普遍的な生物時計の性質である。おそらく我々の理解がどこか本質的なところまでたどり着いていないからであって、研究が進めばきっと総ての生物に共通な普遍的な姿が浮かび上がってくるのかもしれない。

II. リズムの中核は視交叉上核にある

人間を含めては哺乳動物の生物時計は視床下部にある視交叉上核にある。視床下部は脳の一番奥深

いところにあつて、体温調節とか、摂食、飲水などをつかさどる中核がある場所である。視交叉上核はこの視床下部の前部腹側、第3脳室の両側にある片側直径0.4ミリほどの小さな1万個ほどの神経からなる細胞集団である³⁾。この核がまず生物リズムに重要であることが示唆されたのはこの核の細胞を破壊すると行動のリズムがすべて消失してしまうことが観察されたことに始まる。次に神経の代謝活動や電気活動が脳のほかの場所と比べると極端に大きな昼夜変動を示すことが確認された。続いて、視交叉上核を脳の中で入力と出力をナイフで切り放してしまった動物で、依然視交叉上核は24時間周期の変動を電気活動に表していることが報告された。さらにこの事実は視交叉上核を生体から完全に取出してしまつてガラスの上に培養してもリズムが続いていることで確認された。その後、生まれたばかりの子供の視交叉上核を別の視交叉上核を破壊された動物に移植して、その移植された動物にリズムを戻すことさえ実現されている。このようには哺乳動物の生物時計機能が視交叉上核に集中していることは極めてはっきりした実験結果によって、確立している。この状況はほかの行動について中核と考えられた脳の領域の研究と比べて際だった対照を成している。このことは睡眠の中核や、摂食の中核が最初考えられた以上に脳のたくさんの場所が絡み合ったシステムとして働いていることが判つてきたことを考えれば理解できる。

III. 生物界全体の生物時計

視床下部視交叉上核は脳の視覚系に関わる神経

別刷請求宛先：井上慎一

〒753 山口市吉田1677-1 山口大学理学部自然情報科学科

Reprint Requests to Shinichi Inoue, Department of Physics, Biology and Informatics, Yamaguchi University, 1677-1, Yoshida, Yamaguchi 753 Japan

構造としてはほ乳動物の中で安定な構造であり、ほとんどの動物で存在が確認されている。少なくともヒトからラット、マウスまでの種では視交叉上核のみが生物時計の場所であり、それ以外にこの様な場所はない。それ以外の種で視交叉上核が生物時計を含んでいるかという点ではまだ実験が限られていて、答えは得られていないが、その可能性は高い。視交叉上核と良く似た神経核はじつはほとんどの脊椎動物にあるとされている。これらの生物でも視交叉上核はリズムを生み出す中枢であろうと考えられている。ただ、脳の神経核の研究はこれらの脊椎動物では非常に難しく、具体的なデータは不足している。そのうえこれらの種では、視交叉上核以外に生物時計機能を持つ場所があることが判っている(表1)。一つが松果体

表1 生物時計の局在場所

単細胞生物	細胞内		
植物	特定の場所になった細胞		
昆虫	視葉		
魚	網膜	松果体	
両生類	網膜	松果体	
は虫類	網膜	松果体	脳内光受容細胞
鳥	網膜	松果体	脳内光受容細胞or 視交叉上核
哺乳動物			視交叉上核

と呼ばれる器官であり、もう一つが網膜である。松果体は多くの動物では脳の正中線上に乗っている光受容と体色や性成熟に関与するメラトニンというホルモンを分泌する器官である。たとえばスズメやハトの実験では松果体を壊すとリズムがなくなったり、松果体と同時に眼を取り除くとリズムがなくなることが知られている。同じような知見はは虫類や両生類でも得られている。この二つの器官の役割の軽重は種によって違っているが、その役割の軽重と良い相関が有るのはメラトニンの血中ホルモンの産生量である。メラトニンが松果体だけで作られる種ではリズムの維持に松果体の寄与が大きく、網膜でもメラトニンをたくさん合成している種では網膜もリズムに強く関与す

る。松果体、網膜のほかに視床下部にある視交叉上核に対応する神経細胞もリズムに関与していることは確実で、これらの種では生物時計が三つの構造に分散して機能していると考えられる。三つに共通な機能は、一つはメラトニンを産生するか、あるいはメラトニン受容体をもっている(視交叉上核にはメラトニン受容体が多い)ことが挙げられる。もう一つの特徴は光に対して応答する共通性も持っていて、リズムと明暗周期との深い結びつきを示している。たとえば松果体に生物時計のある種では松果体の細胞はまだ光感受性を残しており、網膜は勿論光受容器官であり、脊椎動物の視交叉上核は網膜からの線維連絡を直接受けている。鳥や両生類の視交叉上核がこれらの種ですでに知られている脳内の光受容細胞と密接に関係しているのではないかという考えも依然、残っている。ほかに生物時計機能の存在が確認されている器官には軟体動物の眼、昆虫の視葉などが有るが、いずれも光受容に関する機能を営んでいる場所である。

ほ乳動物の生物時計が視交叉上核に限局してきたのは結局脳が発達して、機能の専門化、あるいは中枢化と呼べるような進化が起こったためであると考えられるであろう。

IV. 何がリズムを引き起こすか

A. 生理から神経系へ

さて、視交叉上核はどのような仕組みで24時間リズムを作り出しているのでしょうか?そのためにほかの細胞が必要ないことはすでに、In vitroの培養系でもリズムが存在することから明らかである。秘密は視交叉上核の細胞か、さもなくば細胞の連絡の仕方にあるはずである。いま、その仕組みは明らかではないが、その周辺のことは少しずつ解りつつある。

視交叉上核の細胞の電気活動には他の脳の部域では見られない著しい昼夜差がある(図1)。これは恒暗条件でも同じである。ラットでは昼間の一般的には脳の活動が下がるときに視交叉上核のスパイク頻度は著しく昂進し、夜は昼の一割ぐらいのスパイクしか発射していない³⁾。これに応じ

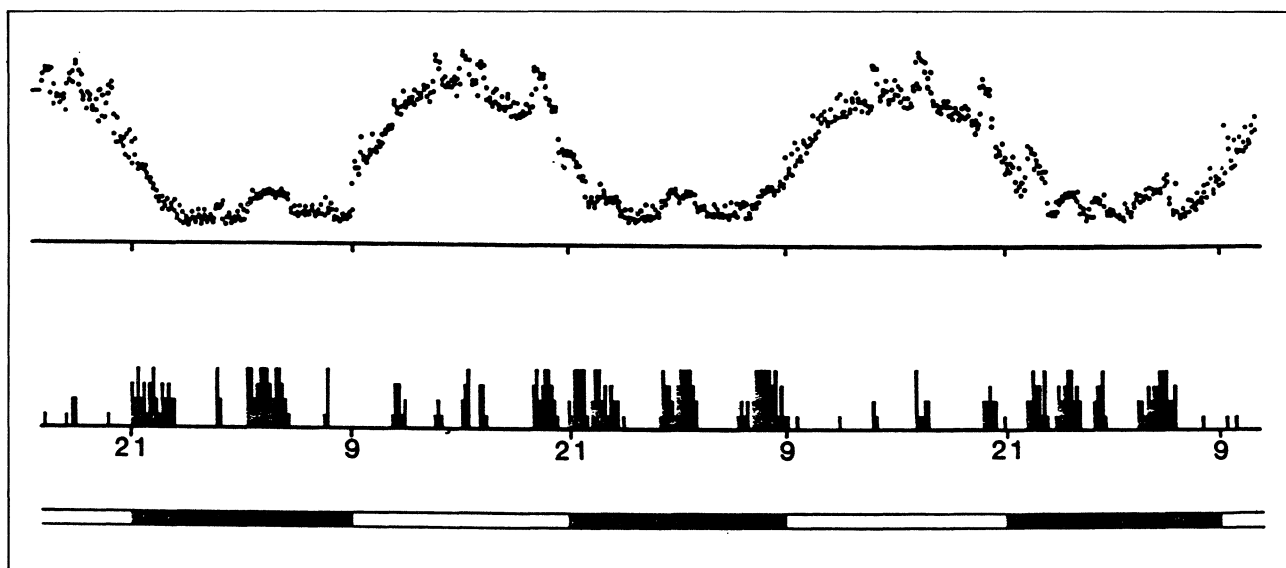


図1 視交叉上核の示す電気活動のリズム。

視交叉上核の細胞は昼は著しく活動が高まり、夜は少ししか活動しない。

て代謝活動にも他の部域ではみられないような大きな日周変化がある。例えばグルコースの取り込みは昼間高く、ATP含量は夜高い。視交叉上核が全体同調して昼は活動が高まり、夜は活動が下がっていると考えられる。但し、一個一個の細胞の変化を細かく観察すれば夜活動が高まる細胞もあることが報告されており、細胞同士の結合は非常に強いわけではないと思われる。おもしろいことにこの変化に後で述べるような部域差があるという報告はない。

ところが、視交叉上核の細胞が合成している神経伝達物質の分布を調べてみると、電気活動、ATPやグルコースの取り込みとは違ったパターンが表れる。視交叉上核はペプチドを合成する細胞の数が多いが、その中で、バソプレシン (Vasopressin) はほとんど視交叉上核の背内側の細胞でしか合成されない⁹⁾。もう一つの視交叉上核を特徴づけるペプチドであるVIP (Vasoactive Intestinal Polypeptide、血管収縮性小腸ペプチド) はバソプレシンを合成する細胞を避けるようにして、視交叉上核腹外側部で合成される。GRP (Gastrin Releasing Peptide、ガストリン放出ペプチド) 産生細胞もVIPの領域と重なって腹外側部に限局している。細胞体から出た線維の分布も特徴

を持っている。VIPの線維は視交叉上核全体に分布し、一部は核外に投射するが、バソプレシンの線維はほとんどVIP産生細胞のある領域には入らない。さらに他の脳の領域からの大きな入力はほとんど総てVIPとGRPが合成される領域に投射する。例えば網膜から直接視交叉上核に投射する網膜視床下部路も外側膝状体を経由して投射する膝状体視床下部路も中脳の縫線核から投射するセロトニン線維束も腹外側のおそらくVIPかGRP産生細胞にしか投射しない。

これらの事実は視交叉上核には腹外側と背内側と呼べる二つの領域があって、生物時計機能をこの領域で分担しているのではないかとすることを想像させる⁴⁾。

バソプレシンとVIPの視交叉上核内での含量の変化も特徴がある。バソプレシンは光が点こうが消えようが点灯の数時間後に当たる時刻になると含量が増加し、夜に当たる時刻には含量が低い。もう一つの視交叉上核背内側に特徴的なペプチドであるソマトスタチンもバソプレシンと同じような振る舞いを示す。一方VIPとGRPは恒暗条件下ではほぼ一定で、日周変化を示さないが光が点くとVIPは減少し、GRPは増加する。これらの観察は腹外側部分は光の制御に関係し、背内側部分は

内因的なリズムの維持に関係しているという仮説と矛盾しない³⁾。

視交叉上核が背内側と腹外側部分に分けられるとしてリズムを作り出す機構にとってはどちらが重要なのか？それとも二つの部域は機能を分担してその二つが合わさって初めてリズムが作られるのだろうか？これは今のところ解らない。視交叉上核を外科的手段で背内側と腹外側に分けると腹外側のVIPが合成される領域の電気活動リズムがより長く安定に記録できるという観察もあるが、背内側のリズムも消えるわけではないので、本当に生理的条件下でどちらが重要なのか、あるいはそのような質問が意味のあることなのかこの実験からは結論できない。

松果体や網膜の細胞では一個にまでした培養細胞が依然、24時間リズムを示すことが観察されている⁶⁾。そこで視交叉上核の細胞が一個でもリズムを示すのかは興味のある問題であるが、答えるのは技術的には難しかった。そこで培養した視交叉上核のいくつかの細胞から同時に長時間電気パルス記録し、培養下で、機能しているシナプスがあるにも関わらず、電気活動のリズムがそれぞれ独立して進行していくのを観察した最近の報告は大変興味深い⁶⁾。これは一個の視交叉上核細胞の細胞内に生物リズムを作り出す機能があることを示唆している。視交叉上核の総ての細胞がその機能を持っているのか、それとも特定の一部だけなのか、それでは何が生体内では視交叉上核細胞のリズムを同調させているのか、答えられていない疑問はさらに大きくなるけれども。

いままで概括してきたように生理的レベルでリズムの生成の機構を探究してきた研究は多くの情報を提供しているが、それぞれのレベルでの得られたイメージは矛盾しているように思えてならない。それは何かおそらく統一的に説明できるキーになる事実がまだ明らかにされていないからではないかという感じがしている。矛盾するようになる事実が積み重なってきて、何か新しいそれを統一するような概念が生まれることを信じてみたい。

B. 細胞から分子へ

上に述べたように視交叉上核でも細胞レベルで

リズムがつくられている可能性が指摘されている。これには単細胞の生物がリズムを示すことや、鳥や虫類、両生類では松果体や網膜の細胞が一個でもリズムを示すことからある程度予測されていたことかもしれない。しかし脳の視交叉上核は不均一の細胞が構造を作って構成していることも事実であり、通常生体内では全体として同調してリズムを刻んでいることも確かめられている。一個の細胞だけでリズムを作ることが十分ならば、この様な不均一な細胞同士の構造はどんな意義を持っているのか？この問いに十分整理して答えられるデータはないが、実験事実を整理してみることは出来る。

視交叉上核の背内側と腹外側で生成されるペプチドの日周変化が違って、その機能分担が違うことを予測させることをすでに述べた。その原因の一つはペプチドの遺伝子発現の日周変化が違っていているからである。バソプレシンとソマトスタチンのmRNA量を視交叉上核で定量し、時刻による変化を調べてみると、バソプレシンはCT8(光が点く時刻の8時間後に当たる)、ソマトスタチンはCT0(光が点く時刻に当たる)にそれらのmRNA量が高まっていることが見つかった。この変化は恒暗条件でも継続し、光に対する応答はみられなかった(図2)。一方、VIPとGRPは

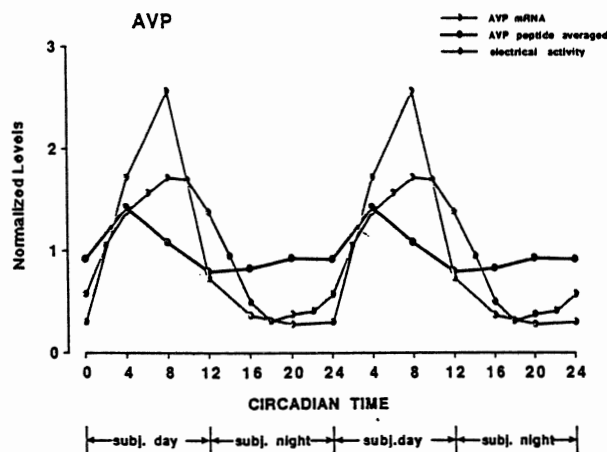


図2 視交叉上核におけるmRNA,ペプチド、それに電気活動のサーカディアンリズム。

視交叉上核にあるバソプレシンの量は電気活動に平行するとともに、バソプレシンmRNA量の変化ともよく相関している。

mRNAのレベルも恒暗条件ではほぼ一定で、光が点いたときだけVIPmRNAは低下しGRPmRNAは増加した¹⁷⁾。これらの結果はペプチドレベルの変化と良く平行しており、ペプチドの特徴的な日周変化のパターンはmRNAの変化のパターンに由来している可能性を示唆している。但し、ペプチドレベルはmRNAを介した合成量の増減だけではなく、細胞によって放出され分解される過程によっても制御されているので、本当にmRNAの変化がペプチドの変化を引き起こしていることを検証するためには例えばmRNAの量を一定に維持したとき、ペプチドの量も一定になるかどうかを調べる必要がある。

細胞に含まれるペプチドの量が変化しているとしても、それは細胞活動に伴って放出されるペプチドの量が同じように変化していることは意味していない。バソプレシンに関しては放出量と含量とはほぼ一致して変化していることが確かめられているが、VIPの放出については日周変化しているのではないかという観察もある。これはVIP含量が恒暗条件下では一日中大きな変化はしないと言う観察と考えあわせると興味深い。放出が高まっているとき合成が高まり正味としての含量は同じに保たれているのだろうか？さらに放出されたペプチドが信号を伝達するためには受容体を活性化しなければならない。受容体の活性や数も変化する可能性がある。バソプレシンに関しては受容体の活性は量の変化と反対の動き、すなわち量が増えると受容体は減り、量が減ると受容体は増加するとの報告がある。一方、VIPについては受容体に対する結合能力はあまり時刻によって変化しないとされている。遺伝子発現の時刻による変化が細胞に特異的であり、あるクラスの細胞では自律的に何かの遺伝子が24時間周期で発現するようにプログラムされているのだろうか。上述の培養視交叉上核一個からリズムを記録した実験ではリズムの有無とペプチドの間には相関がなかったのでこの考えも支持されていない。我々がペプチドについてこだわって調べているのは、これらが視交叉上核に多量に存在し、しかも周辺の視床下部にはあまり存在しないからであり、この分子が視

交叉上核の機能の特徴づけているリズム生成機構に組み込まれていてもおかしくないと考えたからである。しかし、視交叉上核のペプチドはおそらくシナプスで電気活動に伴って放出される神経伝達物質であるから、細胞間のコミュニケーションに使われる分子であって、一個の細胞の内部ですでにリズムは作られているとする予想とは矛盾することも確かである。他の細胞との交渉のない場合でも自律的に日周変動している分子があり、それこそがリズム生成機構解明の手がかりを与えるものである、とする考えもある。これは正しいかもしれないが、それでは細胞内で細胞外からの影響を受けない分子過程が存在するのだろうか？おそらくあらゆる細胞内過程は外界の影響を免れ得ないのではないだろうか。信号伝達系の多くの分子はその名の通り細胞の内外の環境の情報を伝える分子であり、多くの遺伝子発現もまた、環境からの信号によって制御される。特定の遺伝子が発現するのに別の遺伝子産物だけが制御に関わっていて、他のあらゆる細胞内信号系では制御できない過程が想像できるのだろうか？考え返してみれば、リズムもまた外界の環境、特に光によって制御されていることは明らかであるから、細胞内の信号伝達系の制御を受けていることは間違いない。こう考えてくると、どこで外界の環境との独立性と依存性の2つの側面が折り合っているのかを考えることがこの矛盾しているように見える実験事実を理解する鍵かもしれない。遺伝子が関与していることについては最近有力な証拠が挙げられている⁵⁾。一番強力なものは遺伝子の一ヶ所に異常があるだけでリズムの周期が極端に変わってしまったミュータントが存在していることである。例えばハムスターでは τ ミュータントと呼ばれる周期の異常に短い系統が知られており、マウスにはclockと言う名前を付けられた周期の異常に長い系統がある。これらの遺伝子がクローニングされ産物が特定されれば視交叉上核のリズム生成機構の理解は一気に進むことが予想される。

文献

- 1) Cagampang, F. R. A., Yang, J., Nakayama, Y., Fukuhara, C. and Inouye, S.-I. T., Circadian variation of arginine-vasopressin messenger RNA in the rat suprachiasmatic nucleus, *Mol. Brain Res.* 24:179-184, 1994
- 2) Inouye, S.-I. T. and Kawamura, H., Persistence of circadian rhythmicity in a hypothalamic 'island' containing the suprachiasmatic nucleus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76:5962-5966, 1979
- 3) Inouye, S.-I. T. and Shibata, S., Neurochemical organization of circadian rhythm of the suprachiasmatic nucleus, *Neurosci. Res.* 20:109-130, 1994
- 4) Shinohara, K., Tominaga, K., Isobe, Y. and Inouye, S.-I. T., Photic regulation of peptides located in the ventrolateral subdivision of the suprachiasmatic nucleus of the rat: daily variations of vasoactive intestinal polypeptide, gastrin releasing peptide and neuropeptide Y., *J. Neurosci.* 13:793-800, 1993
- 5) Takahashi, J. S., Circadian-clock regulation of gene expression, *Curr. Opinion Genetics Develop.* 3:301-309, 1993
- 6) Takahashi, J. S., Murakami, N., Nikaido, S. S., Pratt, B. L. and Robertson, L. M., The avian pineal, a vertebrate model system of the circadian oscillator: cellular regulation of circadian rhythms by light, second messengers, and macromolecular synthesis, *Recent Prog. Hormone Res.* 45:279-352, 1989
- 7) Yang, J., Cagampang, F. R. A., Nakayama, Y. and Inouye, S.-I. T., Vasoactive intestinal polypeptide precursor mRNA exhibits diurnal variation in the rat suprachiasmatic nucleus, *Mol. Brain Res.* 20:259-262, 1993
- 8) Welsh, D. K., Logothetis, D. E., Meister, M. and Reppert, S. M., Individual Neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neurons*, 14:697-706, 1995
- 9) 井上慎一、生物時計のなかで働くペプチドの役割。生化学、65:465-468, 1993